

Uji ELISA untuk Deteksi Japanese Encephalitis (JE) dari Kasus Ensefalitis di 5 Provinsi di Indonesia Tahun 2014

Japanese Encephalitis Detection by Enzyme Linked Immunoassay of Encephalitis Cases in Five Provinces in Indonesia in 2014

Subangkit*, Masri Maha Sembiring, Bambang Heriyanto, dan Vivi Setiawaty

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes RI, Jl. Percetakan Negara No.23A Jakarta 10560, Indonesia

*Korespondensi Penulis: bangkit_27@yahoo.com atau subangkit@litbang.depkes.go.id

Submitted: 12-05-2015, Revised: 22-03-2016, Accepted: 15-08-2016

Abstrak

Japanese Encephalitis (JE) adalah salah satu penyakit ensefalitis yang disebabkan oleh virus dan merupakan masalah kesehatan di Asia, termasuk di Indonesia. Data JE di Indonesia masih sangat minim, karena diagnosis klinis yang cukup luas dan belum terpaparnya para klinisi tentang kasus JE. Penelitian ini bertujuan memaparkan secara dekriptif hasil Kejadian Luar Biasa (KLB) JE di Indonesia. Sampel penelitian ini adalah kasus KLB JE sepanjang tahun 2014. Spesimen diperiksa dengan menggunakan metode ELISA Capture IgM JE, sementara gejala klinis dianalisis secara dekriptif. Hasil penelitian terdapat 19 kasus KLB JE selama tahun 2014 yang berasal dari 5 Provinsi yaitu Provinsi Banten, Provinsi Jawa Tengah, Provinsi Kalimantan Barat, Provinsi Sulawesi Utara, dan Provinsi Sumatera Utara. Gejala klinis utama penderita kasus JE adalah panas (100%), diikuti dengan penurunan kesadaran (58%), perubahan status mental (53%) dan lumpuh (32%) serta kejang-kejang (21%). Hasil pemeriksaan laboratorium terhadap antibodi IgM JE menunjukkan terdapat 2 kasus positif JE, 2 Equivokal dan 15 Negatif. Kesimpulan penelitian ini selama tahun 2014 dilaporkan 19 kasus KLB JE, dengan 2 kasus positif JE yang berasal dari Provinsi Kalimantan Barat (Kabupaten Landak) dan Sulawesi Utara (Kota Manado).

Kata Kunci: *Japanese Encephalitis*, IgM, ELISA

Abstract

Japanese Encephalitis is one of viral infection that became health problem in Asia, including Indonesia. The information of JE cases are rare since the symptoms are very wide and JE is not familiar among clinicians. This study aims to describe the JE cases from encephalitis outbreak. A total of 19 samples consisting of serum and CSF specimens collected during 2014 was obtained from reports JE outbreaks of five provinces (Banten, Central Java, West Kalimantan, North Sulawesi and North Sumatera). The main symptoms were fever (100%), loss of consciousness (58%), confuse (53%), paralyzed (32%) and seizure (21%). The laboratory test results found two cases with positive IgM JE, two cases equivocal and 15 negative. From this preliminary results we concluded that 2 out of 19 suspected cases were positive JE that came from Landak District in West Kalimantan and Manado District in North Sulawesi.

Keywords: *Japanese Encephalitis*, IgM, ELISA

Latar Belakang

Japanese encephalitis (JE) adalah salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus JE yang dapat menyebabkan radang otak (ensefalitis). Penyakit ini endemis di Asia termasuk Indonesia. JE merupakan penyakit zoonosis dari kelompok arbovirus yang ditularkan dari babi dengan perantara nyamuk *Culex tritaeniorhynchus*. Setiap tahunnya, diperkirakan sebanyak 50.000 kasus ensefalitis disebabkan oleh virus JE dengan 10.000 meninggal dan

15.000 hidup dengan kelainan neurologi berat.^{1,2,3}

Infeksi virus JE pada manusia umumnya tanpa gejala (asimptomatik) atau bergejala ringan, walaupun demikian sebagian kecil berkembang menjadi peradangan otak dan perbandingan antara kasus bergejala dengan tanpa gejala berkisar antara 1 dalam 300 sampai 1 dalam 1.000 kasus.⁴ Kurang dari 1% manusia yang terinfeksi oleh virus JE bermanifestasi klinis dan 20 - 30% akan berakhir dengan kematian serta 30 - 50% dari kasus yang hidup akan menderita kelainan



Gambar 1. Distribusi Geografis Endemis Japanese Encephalitis

neurologis yang ringan sampai berat. Penyakit JE mengenai terutama anak-anak, sedangkan orang dewasa di negara yang endemis pada umumnya sudah memiliki kekebalan alamiah setelah terinfeksi pada masa kanak-kanak, tetapi semua kelompok usia dapat dijangkiti penyakit ini.⁵⁻⁷

Risiko infeksi virus JE pada tiap negara Asia berbeda-beda berdasarkan pola musim dan kondisi wilayah. Di negara Asia yang memiliki empat musim, penularan virus JE tinggi terutama pada musim panas dimana pada saat itu bisa terjadi wabah, sedangkan pada negara tropis dan subtropis penularan bisa terjadi sepanjang tahun namun intensitasnya meningkat pada saat musim hujan. Di Indonesia, diperkirakan endemis di daerah-daerah tertentu dengan adanya laporan kasus setiap tahun dimana puncak penularannya bervariasi tergantung pulau/wilayah. Surveilans berbasis sentinel sudah mengidentifikasi adanya kasus manusia di Bali, Kalimantan, Jawa, Nusa Tenggara, Papua, dan Sumatera.⁸

Dalam kurun waktu 1986–1996, sebanyak 284 kasus JE dilaporkan dari 3 negara yaitu Indonesia, Malaysia, dan Filipina dibandingkan jumlah kasus JE yang dilaporkan di Thailand dan Vietnam yang mencapai ribuan, dengan kondisi wilayah yang hampir sama.⁹ Dari tahun 1993–2004, didapatkan spesimen positif JE pada manusia dan binatang ternak di 14 Provinsi. Rendahnya insiden kasus JE di Indonesia, kemungkinan disebabkan kurang terpaparnya klinisi tentang penyakit JE dan kemampuan diagnosis laboratorium daerah. Penemuan kasus

JE saat ini terutama dari adanya laporan Dinas Kesehatan/Rumah Sakit dari daerah endemis yang mencurigai adanya kasus JE.

Metode

Spesimen diperoleh dari kasus tersangka terinfeksi JE yang dikirimkan ke Laboratorium Virologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan (PBTDK), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan, selama tahun 2014. Sebanyak 20 spesimen berupa serum dan cairan serebrospinal (CSF) dari 19 kasus tersangka JE di sepuluh kabupaten/kota di lima provinsi (Banten, Jawa Tengah, Kalimantan Barat, Sulawesi Utara dan Sumatera Utara) (Tabel 1), diterima di Laboratorium Virologi PBDTK dan dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan metode ELISA-Capture.

Serum dan CSF diperiksa dengan menggunakan kit NIV JE IgM Capture ELISA.¹⁰ Adapun prinsip pemeriksaannya adalah antibodi IgM pasien (dalam serum dan dalam CSF) akan berikatan dengan anti-human IgM (μ chain specific) yang telah dilekatkan dalam permukaan sumur plate (*well*), untuk selanjutnya Antigen JE ditambahkan ke dalam *well* dan kelebihan Antigen dicuci dengan pencucian sebanyak 3 kali. Kemudian ditambahkan Anti-monoclonal JE yang telah dilapis Byotin diikuti dengan penambahan Avidin-HRP. Langkah akhir adalah penambahan komogenik substrat (TMB/ H_2O_2) dan reaksi akhir dihentikan dengan penambahan H_2SO_4 1 N. Densitas warna yang terbentuk diukur

dengan panjang gelombang 450 nm *reference* 630 nm.¹⁰

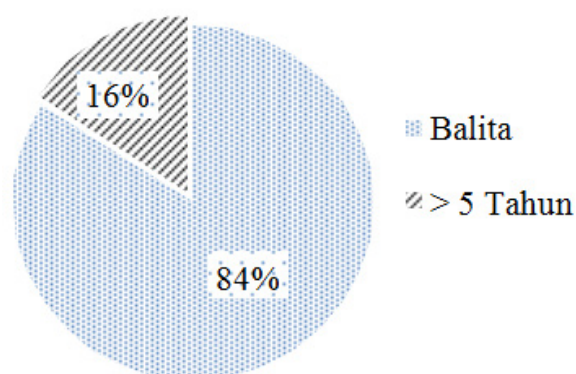
Analisis demografi dan gejala klinis dilakukan secara deskriptif dengan merujuk pada formulir kasus yang dikirimkan bersamaan dengan spesimen.

Hasil

Spesimen CSF hanya dikirim dari Provinsi Banten. Seluruh spesimen yang dikirimkan menggunakan standar pengiriman spesimen yang baik dengan menjaga suhu saat pengiriman.¹¹ Spesimen yang diterima berasal dari kasus tersangka JE dengan rentang waktu antara onset dan pengambilan spesimen berkisar 2–26 hari. Waktu yang dibutuhkan dari pengambilan spesimen sampai dikirimkan ke laboratorium adalah 0–5 hari. Dari 19 kasus tersangka JE, hanya 12 kasus yang disertai dengan data klinis yang lengkap.

Tabel 1. Kasus Tersangka JE Tahun 2014

Provinsi	Kab/Kota	Jumlah Kasus	Jenis Spesimen
Banten	Tangerang Selatan	1	Serum & CSF
Jawa Tengah	Jepara	1	Serum
	Kendal	1	Serum
	Semarang	2	Serum
Kalimantan Barat	Kota Pontianak	1	Serum
	Kubu Raya	2	Serum
	Landak	1	Serum
Sulawesi Utara	Manado	7	Serum
Sumatera Utara	Medan	1	Serum
	Tanjung Balai	1	Serum
TOTAL		19	



Gambar 1. Umur Kasus Tersangka JE Tahun 2014

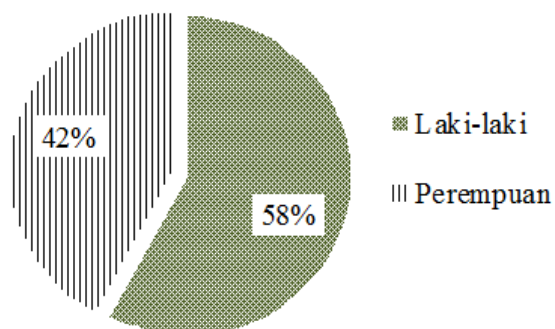
Rentang umur kasus tersangka JE antara 1 bulan sampai dengan 14 tahun. Kelompok umur paling banyak adalah kelompok balita (di bawah 5 tahun) sebanyak 16 orang (84%) dan kelompok anak-anak (>5–14 tahun) sebanyak 3 orang (16%). Tidak dilaporkan adanya kasus tersangka JE pada kelompok umur dewasa (Gambar 1). Kasus dengan jenis kelamin laki-laki lebih banyak dibandingkan dengan perempuan (Gambar 2)

Semua kasus yang diterima belum mempunyai riwayat imunisasi terhadap JE. Gejala klinis dominan dari kasus tersangka JE adalah panas dengan 19 kasus, diikuti dengan penurunan kesadaran, perubahan status mental dan lumpuh, serta kejang-kejang. Sedangkan gejala kaku kuduk hanya dilaporkan pada dua kasus dan sakit kepala hanya dilaporkan pada satu kasus. (Tabel.2)

Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan terdapat kasus dengan positif IgM sebanyak dua kasus yang berasal dari Provinsi Kalimantan Barat (Kabupaten Landak) dan Provinsi Sulawesi Utara (Kota Manado), sedangkan 15 kasus lainnya dilaporkan negatif dan sisanya *Equivocal*. Hasil *equivocal* sudah dilakukan pemeriksaan secara *duplo* (Gambar

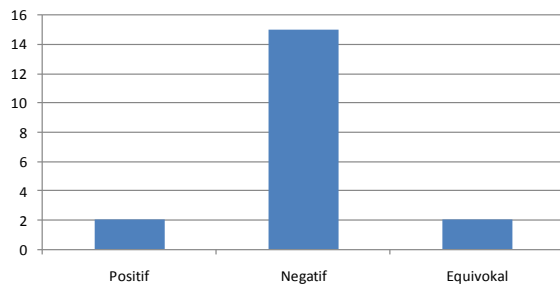
Tabel 2. Gejala Klinis Kasus Tersangka JE Tahun 2014

Gejala Klinis	Jumlah Sampel (%)
Panas	19 (100)
Penurunan Kesadaran	11 (58)
Perubahan Status Mental	10 (53)
Lumpuh	6 (32)
Kejang-kejang	4 (21)
Kaku Kuduk	2 (11)
Sakit Kepala	1 (5)



Gambar 2. Jenis Kelamin Kasus Tersangka JE Tahun 2014

3). Pada kasus positif, satu spesimen diambil pada hari ke 8 dari onset dan satu spesimen tidak diketahui onset gejala sakit. Dari keseluruhan kasus ensefalitis yang diperiksa untuk JE, spesimen diambil pada rentang 2–18 hari dari onset.



Gambar 3. Hasil Pemeriksaan Laboratorium JE Tahun 2014

Kasus tersangka terinfeksi virus JE mulai dilaporkan pada bulan Juni sampai Desember 2014, dengan jumlah kasus pada bulan Juni sebanyak dua kasus, 11 kasus pada bulan November 2014 dan enam kasus dilaporkan pada bulan Desember.

Pembahasan

Deteksi virus JE yang dilakukan oleh Laboratorium Virologi Pusat BTDK terhadap 20 spesimen dari 19 kasus ensefalitis dengan tersangka JE memberikan hasil positif hanya pada dua spesimen dari dua kasus di Kalimantan Barat dan Sulawesi Utara. Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia merupakan daerah endemis untuk JE, sebagaimana hasil yang didapatkan dari beberapa penelitian yang dilakukan di Indonesia secara sporadik. Beberapa penelitian memberikan perkiraan insiden kejadian JE di Indonesia digolongkan dalam 2 wilayah yaitu wilayah insiden Risiko Tinggi dengan rata-rata insiden JE untuk golongan semua umur adalah 3,7 per 100.000 dan wilayah insiden menengah dengan rata-rata insiden untuk semua golongan umur adalah 1,7 per 100.000.

Adapun wilayah dengan insiden tinggi adalah Bali, Nusa Tenggara, Maluku, Pulau Kalimantan, dan Pulau Sulawesi, sedangkan wilayah lainnya masuk ke dalam insiden JE yang menengah.^{11,12} Penelitian di Bali tahun 2001–2003 menunjukkan hal yang sama. Adanya laporan kasus ensefalitis dengan tersangka terinfeksi JE menunjukkan adanya kewaspadaan tenaga kesehatan di wilayah endemis, namun kasus dengan gejala yang tidak spesifik mungkin tidak terdeteksi, sehingga dapat menurunkan

insiden JE di wilayah tersebut.¹³ Hal ini terbukti pada penelitian '*febrile illness*' yang dilakukan di Thailand dan Malaysia bahwa terdapat kasus JE hanya dengan gejala klinis demam dengan sakit kepala tanpa adanya gejala ensefalitis.^{14,15}

Sebagai wilayah endemis JE, terutama daerah wisata seperti Bali, JE harus menjadi perhatian bagi pemerintah, karena penularan JE tidak hanya terjadi pada penduduk di wilayah tersebut, dan dapat menginfeksi turis asing yang sedang berkunjung ke Indonesia. Beberapa kasus konfirmasi terinfeksi JE dilaporkan dari beberapa warga negara asing setelah berkunjung ke Indonesia, salah satunya infeksi yang didapat oleh turis asal Jerman yang selama 2 minggu tinggal di Bali pada tahun 2011. Sejak tahun 1989 sampai 2011 dilaporkan beberapa turis konfirmasi terinfeksi JE setelah tinggal beberapa hari di Bali.¹⁶ Hal ini menunjukkan bahwa ancaman infeksi JE mengintai penduduk Indonesia terutama di wilayah endemis JE walaupun jumlah kasus terinfeksi belum banyak dilaporkan mungkin disebabkan kurangnya informasi tentang JE ke tenaga kesehatan.

JE banyak mengenai terutama anak-anak, sedangkan orang dewasa di negara yang endemis pada umumnya memiliki kekebalan setelah terinfeksi pada masa kanak-kanak, tetapi semua kelompok usia dapat dijangkiti penyakit ini.^{5,6,7} Hal ini sesuai dengan jumlah rentang umur yang didapatkan dari kasus tersangka JE yang dikirimkan ke Laboratorium Virology, Pusat BTDK yaitu semua umur dibawah 14 tahun dengan kelompok umur paling banyak adalah kelompok balita (dibawah 5 tahun) sebanyak 16 orang (84%). Risiko gangguan neurologis setelah terinfeksi virus JE meningkat pada anak-anak, menyebabkan terbentuknya kurva insiden *J-shaped* pada umur tertentu.¹⁷

Gejala umum JE adalah sama dengan gejala ensefalitis akut sindrom (AES) yaitu demam tinggi ($\geq 39^{\circ}\text{C}$) selama 5–15 hari dan atau diiringi oleh 2 gejala lainnya seperti, sakit kepala, muntah, pingsan, delirium, gerakan abnormal, adanya *Kernig Sign*, kejang, leher kaku, serta tidak sadar.¹⁷ Pada seluruh kasus tersangka JE menunjukkan gejala panas (100%) diikuti dengan penurunan kesadaran dan perubahan status mental. Hanya 1 kasus saja yang melaporkan gejala klinis sakit kepala, hal ini dikarenakan kasus hampir sebagian besar adalah balita sehingga mereka tidak dapat berkomunikasi tentang apa yang dirasakan dan gejala klinis hanya dilakukan berdasarkan pengamatan saja. Pada kasus positif

JE, dilakukan pengambilan spesimen hari ke 8 dimana hal ini sesuai dengan pola infeksi virus JE dimana antibodi IgM akan terbentuk pada hari ke 7 – 10 setelah infeksi. Terdeteksinya antibodi IgM menunjukkan adanya infeksi akut suatu penyakit.

Selain hasil positif, dua kasus menunjukkan hasil pemeriksaan equivokal yang berasal dari wilayah yang sama dengan kasus positif yaitu di Provinsi Sulawesi Utara (Kota Manado). Kemungkinan hasil equivokal dapat memberikan hasil positif, jika dilakukan pemeriksaan serum konvalescens pada kedua kasus equivokal. Hasil negatif dan equivokal didapatkan dikarenakan waktu pengambilan yang terlalu cepat. Pada kasus equivokal dan negatif, diketahui bahwa pengambilan dilakukan antara 2–6 hari dari onset.

Faktor risiko terinfeksi virus JE di negara tropis seperti Indonesia adalah di daerah pedesaan dimana banyak persawahan dan kolam/danau yang menjadi tempat berkembang biak nyamuk *C. tritaeniorhynchus* vektor JE. Musim hujan juga menjadi faktor risiko infeksi JE karena pada saat ini nyamuk *C. Tritaeniorhynchus* berkembang biak.¹⁸ Hal ini sesuai dengan laporan kasus tersangka JE yang berasal dari daerah pedesaan di Kalimantan Barat dan Sulawesi Utara. Laporan kasus tersangka JE dilaporkan pada bulan November dan Desember, dimana pada bulan Oktober sampai Desember 2014 merupakan musim penghujan di Indonesia.

Kesimpulan

Selama tahun 2014 dilaporkan 19 kasus ensefalitis dengan tersangka terinfeksi JE dan sebanyak dua dari 19 kasus tersebut positif JE yang berasal dari daerah endemis JE di Indonesia yaitu Provinsi Kalimantan Barat (Kabupaten Landak) dan Sulawesi Utara (Kota Manado). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kasus JE jarang dilaporkan, namun kasus JE tetap ada dan dapat terus bertransmisi di Indonesia.

Saran

Pemantauan kasus JE secara terus menerus dengan surveilans berbasis laboratorium sangat diperlukan di daerah endemis. Pemerintah daerah dan pusat saling bekerjasama secara terpadu agar pelaksanaan surveilans JE berbasis laboratorium dapat dilaksanakan secara terus-menerus dan berkesinambungan.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Ibu Pretty Multihartina, Ph.D. selaku Kepala Pusat BTDK yang telah mendukung dalam penyediaan bahan pemeriksaan JE. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Subdit Zoonosis Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Dinas Kesehatan Kabupaten/Kota yang telah membantu dalam pengumpulan data sehingga dapat dilakukan analisis. Penghargaan yang besar kami sampaikan kepada staf laboratorium nasional penyakit infeksi Pusat BTDK atas kerjasama yang baik.

Daftar Pustaka

1. Halstead SB, Jacobson J. Japanese encephalitis vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, editors. Vaccines. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008. p. 311–52.
2. Burke DS, Leake CJ. Japanese encephalitis. In: Monath TP, editor. The arboviruses: epidemiology and ecology, Vol. 3. Boca Raton: CRC Press; 1988. p. 63–92.
3. Fischer M, Lindsey N, Staples JE, Hills S, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Japanese encephalitis vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Recomm Rep. 2010;59:1–27 pmid: 20224546.
4. Huang CH. Studies of Japanese encephalitis in China. Adv Virus Res. 1982;27:71–101.
5. Fischer M, Hills S, Staples E, Johnson B, Yaich M, Solomon T. Japanese encephalitis prevention and control: advances, challenges, and new initiatives. In: Scheld WM, Hammer SM, Hughes JM, editors. Emerging infections 8. Washington: ASM Press; 2008. p. 93–124.
6. World Health Organization. The global burden of diseases: 2004 update. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2008.
7. Maha MS, Moniaga VA, Hills SL, Widjaya A, Sasmito A, Hariati R, et al. Outcome and extent of disability following Japanese Encephalitis in Indonesia children. Int J Infect Dis. 2009;13(6):389–93.
8. Hills SL, Weber IB, Fischer M. CDC, Chapter 3. Japanese Encephalitis. [cited 2015 1 April]. Available from <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2014/chapter-3-infectious-diseases-related-to-travel/japanese-encephalitis>
9. Tsai TF, Chang GJ, Yu YX. Japanese encephalitis vaccines. In: Vaccine. Edited by Plotkin SA, Orenstein WA. W.B. Saunders Company; 1999:672–710.
10. Singh AS, Tripathi P, Khan SF, Jain A, Atam A, et al. Non neurological manifestations in acute encephalitis syndrome in Uttar Pradesh, India. J Neuroinfect. 2014;Dis 5:143. DOI:10.4172/2314-7326.1000143

11. World Health Organization. Japanese encephalitis: status of surveillance and immunization in Asia and the Western Pacific 2012. *Wkly Epidemiol Rec.* 2013;88: 357–364.
12. Campbell GL, Hills SL, Fischer M, Jacobson JA, Hoke CH, Hombach JM, et al. Estimated global incidence of Japanese encephalitis: a systematic review. *Bull World Health Organ.* 2011;89:766–74,74A–74E.
13. Kari K, Liu W, Gautama K, Mammen MP Jr, Clemens JD, Nisalak A, et al. A hospital-based surveillance for Japanese encephalitis in Bali, Indonesia. *BMC Med* 2006;4:8. DOI:10.1186/1741-7015-4-8 PMID:16603053
14. Watt G, Jongsakul K. Acute undifferentiated fever caused by infection with Japanese encephalitis virus. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;68:704–706.
15. Cardoso MJ, Hooi TP, Kaur P. Japanese encephalitis virus is an important cause of encephalitis among children in Penang. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1995;26:272–275.
16. Berger SA. *Infectious diseases of Indonesia*, 2011. 403 pp, 66 graphs, 1596 references. Gideon e-books. [cited 2015 April 1]. Available from <http://www.gideononline.com/ebooks/country/infectious-diseases-of-indonesia/>.
17. Solomon T, Thi TT, Lewthwaite P, Ooi MH, Kneen R, Dung NM, et al. A cohort study to assess the new WHO Japanese encephalitis surveillance standards. *Bull oWorld Health Organ.* 2008;86(3):178–186.
18. Endy TP, Nisalak A. Japanese encephalitis virus: ecology and epidemiology. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2002;267:11–48.